

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平10-504531

(43) 公表日 平成10年(1998) 5月6日

(51) IntCl.⁸

A 6 1 K 38/27

47/36

識別記号

ADD

A E E

F I

A 6 1 K 37/36

47/36

37/36

ADD

J

A E E

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 24 頁)

(21) 出願番号 特願平8-501903
 (86) (22) 出願日 平成6年(1994) 6月17日
 (85) 翻訳文提出日 平成8年(1996) 12月16日
 (86) 国際出願番号 P C T / I T 9 4 / 0 0 0 8 6
 (87) 国際公開番号 W O 9 5 / 3 5 1 1 6
 (87) 国際公開日 平成7年(1995) 12月28日
 (81) 指定国 E P (A T, B E, C H, D E, D K, E S, F R, G B, G R, I E, I T, L U, M C, N L, P T, S E), J P, U S

(71) 出願人 アプライド リサーチ システムズ エー
 アールエス ホールディング ナームロゼ
 ベノートスハップ
 オランダ領アンチル, クラカオ, ヨン ベ
 ー, ホルシラウェヒ 14
 (72) 発明者 サマリターニ, ファブリッツィオ
 イタリア国, イー00139 ローマ, ピア
 ルイジ キアラ 130
 (74) 代理人 弁理士 石田 敬 (外3名)

(54) 【発明の名称】 HGH含有医薬組成物

(57) 【要約】

サッカロースの手段により安定化されたhGHを含む医薬組成物。この製剤は組換えhGHの凍結乾燥物を安定化するのに特に適している。

【特許請求の範囲】

1. ヒト成長ホルモン (hGH) 及び安定化する量のサッカロースの固体の完全な混合物を単独又は他の賦形剤と組み合わせて含むことを特徴とする医薬組成物。
2. 前記固体の完全な混合物が凍結乾燥物であることを特徴とする請求項1に記載の医薬組成物。
3. 前記hGHが組換え体であることを特徴とする請求項1に記載の医薬組成物。
4. 前記安定化剤がサッカロースのみであることを特徴とする請求項1～3のいずれかに記載の医薬組成物。
5. 前記安定化剤がマンニトールと組み合わせたサッカロースであることを特徴とする請求項1～4のいずれかに記載の医薬組成物。
6. 5又は10mg／バイアルのhGHを含むことを特徴とする請求項1～5のいずれかに記載の医薬組成物。
7. 酢酸緩衝液、コハク酸緩衝液及びリン酸緩衝液から選択される緩衝液を含むことを特徴とする請求項1～6のいずれかに記載の医薬組成物。
8. 前記緩衝液がリン酸緩衝液であることを特徴とする請求項1～7のいずれかに記載の医薬組成物。
9. 前記溶液のpHが6.0～8.0の範囲内であることを特徴とする請求項1～8のいずれかに記載の医薬組成物。
10. 前記溶液のpHが7.5であることを特徴とする請求項1～9のいずれかに記載の医薬組成物。
11. 5もしくは10mg／バイアルのhGH, 68.4mg／バイアルのサッカロース並びにpH7.5におけるリン酸緩衝液を含むことを特徴とする請求項1～10のいずれかに記載の医薬組成物。
12. 前記構成物の水溶液の調製、容器内の分散及び該容器内の凍結乾燥を含むことを特徴とする請求項1～11のいずれかに記載の医薬組成物を調製するための方法。

13. 使用前の保存並びに注入可能物のための溶媒もしくは溶液内への前記混合物の再構成のために適した容器内に滅菌条件において密閉された請求項1～11のいずれかに記載の固体混合物を含む前記医薬組成物の提供形態。

14. 注入可能物のための溶媒又は溶液において再構成されることを特徴とする請求項13に記載の固体混合物を含む溶液。

15. 前記溶媒が静菌溶媒であることを特徴とする請求項14に記載の溶液。

16. 前記静菌溶媒がm-クレゾール 0.3%であることを特徴とする請求項15に記載の溶液。

【発明の詳細な説明】

HGH含有医薬組成物

本発明はヒト成長ホルモン (hGH) 含有医薬組成物に関する。更に詳しくは、それはサッカロース安定化ヒト成長ホルモンの組成物に関する。高度に精製された蛋白質は時間不安定性であり、例えばラクトース及びマンニトールのようなサッカリドと、又は他にアルブミン及びグリシンのような蛋白質及びアミノ酸との混合において安定化されることが知られている。

ヒト成長ホルモンは、ヒト下垂体において分泌される。その成熟形態において、それは191アミノ酸からなり、22,000の分子量を有し、これによりインシュリンより3倍超大きい。このホルモンは、2つの鎖内ジスルフィド架橋を含む線状ポリペプチドである。組換えDNA技術の出現まで、hGHは限られたソース：ヒトの死体の下垂体腺からの困難な抽出によってのみ得ることができた。結果の物質の不足は、それが火傷、創傷治癒、ジストロフィー、骨癒合、散在性胃出血及び偽関節の治療に有効であると提唱されていてでさえ、その適用が下垂体機能低下小人症の治療に限定されていた。HGHは、それが下垂体機能低下小人症及びそれが有効である他の症状を治療するのに適切であろう量において、組換え宿主細胞において産生され得る。

hGHの主な生物学的効果は成長を促進することである。影響を受ける器官系は、骨格、結合組織、筋肉、並びに肝臓、腸及び腎臓のような内臓を含む。成長ホルモンは細胞膜上の特定のレセプターとの相互作用を通してその作用を示す。

凍結乾燥された蛋白質の組成物はM. J. Pikal, Biopharm, Octob

er 1990, 25~30に記載される。マンニトール、グリシン、アルギニン及びラクトースのような安定化賦形剤を含む成長ホルモン製剤の例が報告されている。

特に、崩壊温度を増加させ、より短い凍結乾燥時間を得るのを許容する糖のようなそれらのアモルファス状態における種々の物質の存在における凍結乾燥が記載されている。しかしながら、著者によれば、全ての蛋白質のために標準的な製剤を予測することが可能でなく、最良の製剤の選択には著しい選択の労力を必要とする。

ドイツ特許DE3520228号は、反復性マルトトリオース単位を含むポリザカリドの手段により安定化される製剤において、成長ホルモンを含む生物活性蛋白質を記載する。

W089/09614は、ヒト成長ホルモン：グリシンのモル比が：1：50～200であるグリシン、マンニトール及び緩衝液で安定化されたヒト成長ホルモンの製剤を記載する。

US5122367特許は、ポリマーマトリックス内に組み込まれた蛋白質及びポリサッカリドを含む成長ホルモンの投与のための制御された放出システムを記載する。

EP210039特許出願は40%サッカロースを含むマトリックスの形態において、ウシ又はブタ成長ホルモンの動物への皮下投与のための制御された放出性移植物を記載する。

本発明に従うと、hGHは天然又は合成のいずれかであり得、即ち組換えDNA技術を基にして製造され得、後者が好ましい。

ヒト成長ホルモンの注入可能な製剤は、乾燥粉体を得るためにそれらの凍結乾燥を含む処理により得られる。ヒト成長ホルモンは、凍結乾燥過程の間、非常に変性しやすく、それらを室温に保存する場合より長いサイクルの生活を維持することが安定した製剤を得るのに必要とされる。

hGH様の材料は健康に注意する人及び患者に供されるべきであるため、これらの材料は医薬組成物として調製されなければならない。このような組成物は適切な期間、活性を維持しなければならず、容易かつ迅速なヒトへの投与をそれ自体で受け入れなければならず、そして直ちに製造できなければならない。多くの場合、医薬製剤は凍結又は凍結乾燥された形態において提供される。この場合、組成物は使用前に解凍又は再構成されなければならない。凍結乾燥された標品はそれらの液体物より優れた活性をしばしば維持することが当業者に認められているので、凍結又は凍結乾燥された形態は広範囲の種々の保存条件下での組成物内に含まれる医療剤の生化学的・生体的一体性及び生物活性を維持するのにしばしば用いられる。これらの凍結乾燥された標品は、注入のための滅菌水又は滅菌生理塩類溶液

等のような適切な医薬として許容される希釈剤の添加により使用前に再構成される。

あるいは、組成物は即時の使用のために適した液体形態において供され得る。必要とされるのは、長期の保存においてその活性を維持する液体製剤である。

現在のhGHの製剤は、製剤過程の間並びに保存及び再構成の間、二量体及びより高次の凝集（マクロレンジ）の製剤のため活性を失う。脱アミド化及び酸化のような他の化学的変化も保存によりおこり得る。

ヒト成長ホルモンは、例えばマンニトールSaizen®及び Groorm®

、Seronoで安定化された製剤において市場で見つけられる。

我々は、サッカロースがhGHの製剤に対して、特に組換えDNA技術で調製されたこの糖蛋白質の形態に対してより優れた安定性を与えることを現在、発見している。サッカロースが、再構成された溶液が振とうされた時に沈殿の形成を防ぐことも発見されている。

本発明の主な目的は、単独又は他の安定化剤との組合せにおけるヒト成長ホルモン及び安定化する量のサッカロースの固体の完全な混合物を含む医薬組成物を提供することである。

更なる目的は、容器内の構成物の水溶液を凍結乾燥させるステップを含む前記医薬組成物の調製のための方法を提供することである。他の目的は、使用前の保存に適し、注入可能物質のための混合物の再構成に適した容器内に滅菌条件において密閉された前記固体混合物を含む前記医薬組成物の提供形態を提供することである。

他の目的は、注入可能溶液内に再構成された前記固体混合物のための溶液を提供することである。活性成分の安定性に対する賦形剤の効果を見積もるために、5又は10mgのプロ・バイアルを含む組換えhGHの種々の製剤は、種々の賦形剤：サッカロース、グリシン、マンニトール、サッカロース+マンニトール及びマンニトール+グリシンと共に調製されている。

調製された種々の製剤の組成を表1及び4に報告する。全てがpH7.5で緩衝さ

れている安定化剤を含む溶液でhGHのバルクを希釈することにより凍結乾燥物の調製を行った。得られた溶液をろ過して最終容量とし、種々のガラス瓶に充填し、凍結乾燥した。

4℃, 25℃, 37℃及び50℃で24週間保存されたこのような製剤の安定性の研究を次により行った: R.M. Riggin et al., Anal. Biochem., 167:199~209, 1987により記載される方法に従う逆相HPLC(RP-HPLC)、及びUS Pharmacopeia Preview Nov-Dec 1990 pag. 1253~1261に従うサイズ排除HPLC(HPSEC)。この結果を表2~3及び5~6に報告する。ここで、この測定は種々の製剤においてhGHの回収率の百分率として表される。

hGHの回収百分率を測定するためのクロマトグラフィーアッセイ方法をPikal in Pharmaceutical Research 8, pag. 428 "Assays"

により記載されるように行った。

調剤前の段階において、凍結乾燥形態におけるrhGHの安定性に対するpH及び緩衝液の効果を、50℃における安定性を測定することによりテストした。NaOHでpH 6.00, 7.00及び8.00にされた酢酸、リン酸、コハク酸で調製された異なる緩衝システムにおいてテストを行った。

この結果は、rhGH安定性が緩衝液により影響を受けず、製剤が約pH8.00においていずれにおいてもより安定であることを示した。

組成物のために選択されたpHは7.5であった。

その後、5mg/バイアルのrhGH濃度における7の乾燥された製剤を、異なる賦形剤(サッカロース68.4mg/バイアル、マンニトール36.4mg/バイアル、マンニトール/グリシン25+4mg/バイアル、マンニトール/サッカロース32+7.5mg/バイアル)との活性薬剤の適合性をテストするために、pH7.5におけるリン酸及びコハク酸緩衝液の両方を用いて調製した。賦形剤の量を静菌溶液での再構成の後に等張液を有するよう選択した。充填量は1mlであった。

滅菌条件下で調製されたサンプルを24週間、50℃, 37℃, 25℃及び4℃で保存し、HPSEC、逆相HPLCによりテストした。pH及び水分含量を測定した。

4℃及び25℃における0.3%m-クレゾール及び0.9%ベンジルアルコールで再

構成された溶液の安定性も研究した。

HPSEC及びRP-HPLCを先に記載のように行った。

注入のために1 mlの水で再構成された1のバイアルで、pHメーターによりpHを測定した。凍結乾燥されたバイアルの水分量を測定するために、1つバイアルの組成物を2-イソプロパノール1 mlで懸濁し、Anotop 10, 0.22um Disposable filter (Merck) を通してろ過して、Metrohm Coulometerにおいて注入した。

RP-HPLCによりテストされた安定性の結果 (Riggin's method) を表2に報告する。50℃で24週間後のサッカロースを含む製剤 (表1のHGH/3及びHGH/7) のクロマトグラフィープロファイルは時間0において得られたものと異ならない。

同温度において、13~22%の純度の減少が、マンニトール及びマンニトール+グリシンを含む製剤において見つけられた。

表3に報告されるデータは、HPSEC分析により得られた結果を示すrHGH純度百分率の減少は全てのテストされた製剤において見い出されなかった。水分量の大きな変化は全ての凍結乾燥されたテストされた製剤における研究の間、観察されなかった。

pHの減少が、表1のロットHGH/5及びHGH/7について37℃及び50℃において観察された。

再構成された溶液の安定性もRP-HPLC (Riggin's method) 及びHPSEC分析を通して研究された。

RP-HPLC法において、25℃において5週間後に、ベンジルアルコールで、及びm-クレゾールでの両方で再構成されたサンプルにおいて30%~50%の範囲において、純度の減少が見られた。4℃で7週間後において、その変異はベンジルアルコールの存在下で約14%、m-クレゾールで4%~8%であった。

HPSEC法で4℃においては変異は観察されなかった；これに反して、ベンジルアルコール及びm-クレゾールの両方の存在下における全ての製剤について25℃において、約5%のrHGH純度の減少が見い出された。

結果は、サッカロース及びサッカロース+マンニトールを含む製剤が他の製剤と比較してより優れた安定性プロファイルを示すことを示した。

5 mg組成物で得られた結果を基にして、サッカロース及びマンニ

トールはNaOH 2.5Mで調整されたpH7.5のリン酸及びコハク酸緩衝液を用いて10mg GH/vialを含む5の凍結乾燥製剤（表4）の標品について選択した。1つの製剤はリン酸緩衝液のみの中にサッカロースの68.4mg/バイアル（充填容量1 ml）を含み、他方は、リン酸及びコハク酸緩衝液の両方の中にサッカロースの102.6mg/バイアル（充填容量1.5ml）及びマンニトール+サッカロース130+40mg/バイアル（充填量1.5ml）を含む。サッカロースとマンニトールとの間の最適比率及び良好な物理特性で産物を得るための充填量を予備的凍結乾燥試験を基にして調整した。高い温度に対する凍結乾燥ケーキ耐性の点における最適比マンニトール/サッカロースは3：1であり、凍結乾燥されるべき最大容量は1.5mlであった。

この製剤を24週間、50℃、37℃、25℃及び4℃においてサンプルを保存することにより安定性テストを行った。サンプルを次の分析制御：

HPSEC, RP-HPLC (Riggin's method), pH及び水分量にかけた。

4℃における0.3% m-クレゾール及び0.9%ベンジルアルコールでの再構成された溶液の安定性を4週間監視した。サンプルを、先に記載されるように5 mg投与において行われた同じ制御にかけた。この分析は次の結果を示した：RP-HPLC分析によりテストされたコハク酸緩衝液中のサッカロースの68.4mg/バイアル及び102.6mg/バイアルを含む製剤は、全てのテストされた温度における24週間の保存の後に純度の減少を示さなかった。結果を表5に報告する。50℃における4/6週間の保存後でさえ、他の製剤においては、デグラデーション産物の形成が観察された。

rHGH純度百分率の減少は、HPSEC分析による全てのテストされた製剤において見い出されなかった。表6参照のこと。研究の間、全てのテストされた製剤においてpH及び水分量の変化は観察されなかつた。

サッカロースのみを含む再構成された溶液に基づく研究もRP-HPLC (Riggin's

method) 及びHPSEC分析により行った。

4℃で4週間後に、RP-HPLC法において、ベンジルアルコールの存在下で約12%、及びm-クレゾールで4%の純度の減少が見いだされた。HPSEC法において、ベンジルアルコール及びm-クレゾールの両方の存在下において、4℃でrHGH純度の減少は観察されなかった。

抗菌保存の効能を評価するために、表1のHGH/3製剤のバイアルを静菌溶媒（m-クレゾール 0.3%又はベンジルアルコール 0.9%）で再構成した。それらを、接種から21日目までEuropean Pharmacopeiaに従ってテストした。結果を表7及び8に報告する。

両方の保存溶液において最小許容効能（Minimum criteria）に達した。塩類溶液（NaCl 0.9%）及び静菌溶液の両方におけるスパイキングの後に微生物が計数される0時間において得られた結果は各々90,000～25,000及び78,000～8,000UFC/mlのスパイキングの後すぐに削減される主にスタフィロコッカス及びシュードモナスについてのm-クレゾール対ベンジルアルコールのより高い効能を示すようである（表7）。

更に、アスペルギルスは接種から14日後にm-クレゾールにおいて消滅し（表8）、シュードモナスは6時間後に消失した。

先の結果は68.4mgのサッカロース、pH7.5におけるリン酸緩衝液、メタ-クレゾール 0.3%で再構成された充填容量1mlを含む製剤が5及び10mg濃度の両方のr-HGHの最も優れた安定性を保証するものであることを示す。

医薬の製造の例

材料：純粋なサッカロースPh Eur, BP, Nord, NF (Merck) ; H₃PO₄Suprapur (Merck) ; 分析使用のためのNaOH (Merck) ; 注入のための水。

容器としては、バイアルDIN 2R（ボロシリケートガラスタイプI）、ゴム栓（Pharmagummi W1816V50）並びにアルミニウムリング及びフリップオフキャップ（Pharma-Metal GmbH）。

（各々10mg hGHを含む1000のバイアルのための）サッカロースを含むrHGHの調製。

開始サッカロース溶液を得るために、サッカロース (68.4 g) , H_3PO_4 (1.96 g) を注入可能物 (800ml) のために水に溶解する。hGH (10 g) のバルクをこのサッカロース溶液に加え、2.5M NaOHによりpHを7.5に調整した後、最終容量1000mlにする。この溶液を0.22 μm Durapore滅菌フィルター (Millipore) を通してろ過する。この過程の間、溶液温度を4℃～8℃に保持する。異なる賦形剤又は異なる活性薬剤投与量を含む溶液を同様に調製する。

充填及び凍結乾燥

バイアルにHGH滅菌溶液1mlを充填し、凍結乾燥機に移して少くとも6時間、-45℃に冷却する。凍結乾燥を0.07mBarの真空で-45℃の温度で開始する。次のスキームに従って、加熱を行う：12時間、+10℃；次にサイクルの終りまで+35℃。

5 mgバイアル組成

表 1

	HGH / 1	HGH / 2	HGH / 3	HGH / 4	HGH / 5	HGH / 6	HGH / 7
構成物 :							
r-HGH mg/vial Lot. n. PGRR920 1D 1	5	5	5	5	5	5	5
サッカロースmg/vial	7.5	—	68.4	—	7.5	—	68.4
マンニトールmg/vial	32	36.4	—	25	32	36.4	—
グリシンmg/vial	—	—	—	5	—	—	—

(12)

緩衝液 :

リン酸mg/vial	0.98	0.98	0.98	0.98	—	—	—
コハク酸mg/vial	—	—	—	—	1.18	1.18	1.18
NaOH q. s. to pH	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5
充填容量	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
再構成容量	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml

特表平 10-504531

表2

SAIZEN 5mg

RIGGIN S法によるr-HGH クロマトグラフィー純度

凍結乾燥製剤

		4℃						25℃				37℃				50℃			
		T = 0	1 W	2 W	4 W	8 W	24W	4 W	8 W	24W	1 W	4 W	8 W	24W	1 W	2 W	4 W	8 W	24W
HGH/1 (W/S)		94.63	95.65	---	---	94.51	95.74	94.35	94.71	95.83	95.07	95.15	93.53	---	94.95	94.45	93.62	92.6	92.86
HGH/2 (M)		94.75	96.09	---	---	90.59	92.13	94.32	92.97	92.21	94.09	92.48	88.83	---	92.05	89.00	87.97	83.41	72.3
HGH/3 (S)		94.44	95.38	---	---	95.16	96.28	94.66	94.98	96.41	95.10	95.52	94.43	---	95.06	95.04	94.4	94.66	95.69
HGH/4 (M/G)		94.57	95.40	---	---	93.14	93.65	94.56	93.59	93.98	94.59	93.85	90.81	---	93.09	91.72	88.78	85.89	72.22
HGH/5 (W/S)		94.25	95.45	---	---	94.04	95.02	94.77	94.28	94.59	94.56	94.39	92.57	---	94.10	93.09	92.34	91.93	90.27
HGH/6 (M)		94.29	95.50	---	---	92.50	93.74	94.09	93.56	94.13	93.99	91.74	91.11	---	92.65	91.25	89.58	87.94	81.62
HGH/7 (S)		94.15	95.00	---	---	95.37	96.15	---	94.99	96.46	94.55	94.39	94.52	---	94.67	94.93	94.49	94.54	95.70

M/S=マンニトール+サッカロース

M=マンニトール

M/G=マンニトール+グリシン

S=サッカロース

W=週

表3
RPSBC によるrHClクロマトグラフィー純度
凍結乾燥製剤

		4℃						25℃						37℃						50℃					
		T=0	1W	2W	4W	8W	24W	4W	8W	24W	1W	4W	8W	12W	24W	1W	2W	4W	8W	12W	24W				
HCl/1	(M/S)	97.56	97.98	---	---	98.09	98.68	97.24	98.54	98.38	98.84	98.31	98.20	98.32	---	98.24	97.93	98.24	97.76	97.66	98.01				
HCl/2	(M)	97.64	97.96	---	---	97.04	98.24	98.11	98.45	98.28	97.30	97.77	98.04	97.07	---	98.05	97.64	97.91	95.19	97.14	97.02				
HCl/3	(S)	97.75	97.98	---	---	98.20	98.40	97.15	98.49	98.43	97.70	98.12	98.24	98.52	---	98.29	97.90	98.44	98.06	98.33	98.50				
HCl/4	(M/C)	96.55	96.90	---	---	96.10	98.28	98.14	98.48	98.60	96.58	98.16	97.96	97.28	---	98.40	98.12	98.25	96.52	96.46	96.82				
HCl/5	(M/S)	97.41	97.99	---	---	98.28	98.35	97.88	98.50	98.61	97.57	98.25	98.15	98.08	---	98.24	98.09	98.44	98.12	98.00	98.20				
HCl/6	(M)	97.45	97.99	---	---	97.84	97.86	98.07	98.52	98.44	97.59	97.86	98.08	98.02	---	98.00	96.85	97.81	96.34	98.98	96.79				
HCl/7	(S)	97.60	97.94	---	---	98.31	98.47	98.10	98.47	98.51	97.80	98.09	98.31	98.21	---	98.22	98.26	98.47	98.21	98.11	98.33				

M/S=マンニトール+サッカロース
M =マンニトール
M/C=マンニトール+グリシン
S =サッカロース
W =水

表 4

10mgバイアル組成

構成物：	S10/S/F/L/01	S10/S/F/01	S10/S/S/01	S10/SM/F/01	S10/SM/S/0
r-HGH mg/vial Lot. n. PGR920 1D 2	10	10	10	10	10
サッカロースmg/vial	68.4	102.6	102.6	40	40
マンニトールmg/vial	—	—	—	130	130

(15)

特表平10-504531

緩衝液：

リン酸 mg/vial	1.98	1.98	—	1.98	—
コハク酸 mg/vial	—	—	2.36	—	2.36
NaOH q. s. to pH	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5
充填容量	1 ml	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml
再構成容量	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml

表 5

RP-HPLC による HCl クロマトグラフィー純度

凍結乾燥製剤

		4 °C				25 °C				37 °C				50 °C			
	T = 0	4 W	6 W	8 W	4 W	6 W	8 W	24W	4 W	6 W	8 W	24W	4 W	6 W	8 W	24W	
S10/S/S/01	95.87	---	---	96.08	95.61	95.68	95.28	96.60	95.16	95.66	95.83	96.11	94.73	94.99	94.89	93.74	
S10/S/F/1/01	95.65	---	---	96.01	95.36	95.65	95.92	94.69	94.91	95.48	95.40	94.62	94.17	94.43	94.45	94.31	
S10/S/F/01	95.34	---	---	95.93	95.13	95.57	95.08	---	94.32	94.50	93.41	92.46	92.13	91.47	89.75	---	
S10/SM/S/01	95.52	---	---	95.86	95.83	95.92	95.35	93.38	94.20	94.69	94.50	92.83	---	84.81	---	---	
S10/SM/F/01	95.23	---	---	95.70	94.44	94.94	95.24	90.04	92.51	92.76	90.74	---	87.92	85.29	82.03	---	

S10/S/S/01 = サッカロース/コハク酸 (充填容量 1.5ml)

S10/S/F/1/01 = サッカロース/リン酸 (充填容量 1ml)

S10/S/F/01 = サッカロース/リン酸 (充填容量 1.5ml)

S10/SM/S/01 = サッカロース+マンニトール/コハク酸 (充填容量 1.5ml)

S10/SM/F/01 = サッカロース+マンニトール/リン酸 (充填容量 1.5ml)

表6

HPLCによるHCHクロマトグラフィー純度

凍結乾燥製剤

	4℃				25℃				37℃				50℃			
	T=0	4W	6W	8W	4W	6W	8W	24W	4W	6W	8W	24W	4W	6W	8W	24W
S10/S/S/01	98.20	---	---	97.93	98.41	98.17	98.98	98.27	97.97	98.17	98.09	98.17	97.98	97.84	97.83	98.19
S10/S/F/1/01	98.23	---	---	98.04	98.28	98.34	98.25	98.33	98.28	98.56	98.01	98.24	97.98	98.20	97.87	98.07
S10/S/F/01	98.13	---	---	97.81	98.24	98.17	98.07	---	98.06	98.50	97.90	98.01	97.33	97.82	97.50	98.01
S10/SM/S/01	97.97	---	---	97.82	98.19	98.32	98.22	98.30	96.62	98.14	98.17	97.76	97.61	97.22	97.93	---
S10/SM/F/01	98.17	---	---	97.75	97.98	98.38	98.21	97.61	97.94	98.19	97.26	---	97.34	96.57	96.72	---

S10/S/S/01 = サッカロース/コハク酸 (充填容量 1.5ml)

S10/S/F/1/01 = サッカロース/リン酸 (充填容量 1.0ml)

S10/S/F/01 = サッカロース/リン酸 (充填容量 1.5ml)

S10/SM/S/01 = サッカロース+マンニトール/コハク酸 (充填容量 1.5ml)

S10/SM/F/01 = サッカロース+マンニトール/リン酸 (充填容量 1.5ml)

表7

抗微生物保存液の効能。ベンジルアルコール 0.9%をHCH 製剤化バイアル (SAIZEN) 中の抗微生物保存液 (PRES) として用いた。
European Pharmacopeia に従って接種から21日までテストを行った。対数削減を保存液において0時間 (ZT) において計数されたUFC に対して計算した。

微生物	塩類溶液 UFC/ml	ZT PRES UFC/ml	6時間 UFC/ml lg RED. vs PRES	24時間 UFC/ml lg RED. vs PRES	7日間 UFC/ml lg RED. vs PRES	14日間 UFC/ml lg RED. vs PRES	21日間 UFC/ml lg RED. vs PRES
スタフィロコッカス・ アウレウス	90000	85000	0 >3	80 >3	0 >3	0 >3	0 >3
シェードモナス・ アエルギノサ	78000	48000	18000 0.4	0 >3	0 >3	0 >3	0 >3
カンジダ アルビカンス	92000	36000	N.T. -	N.T. -	0 >3	0 >3	0 >3
アスペルギルス ニッシャー	98000	75000	N.T. -	N.T. -	4000 1.3	300 2.4	200 2.6

N.T. = 未処理

表 8

抗微生物保存液の効能。M-クレゾール 0.3%をHGH 製剤化バイアル (SAIZEN) 中の抗微生物保存液 (PRES) として用いた。
European Pharmacopeia に従って接種から21日までテストを行った。対数削減を保存溶液において0時間 (ZT) において計数
されたUFC に対して計算した。

微 生 物	塩類溶液 UFC/ml	ZT	6時間 UFC/ml 1g RED. vs PRES	24時間 UFC/ml 1g RED. vs PRES	7日間 UFC/ml 1g RED. vs PRES	14日間 UFC/ml 1g RED. vs PRES	21日間 UFC/ml 1g RED. vs PRES
スタフィロコッカス・ ・アウレウス	90000	25000	1000 1.4	0 >3	0 >3	0 >3	0 >3
シェードモナス・ アエルギノサ	78000	8000	0 >3	0 >3	0 >3	0 >3	0 >3
カンジダ・ アルビカンス	92000	60000	N.T. —	N.T. —	0 >3	0 >3	0 >3
アスペルギルス・ ニッヤー	98000	78000	N.T. —	N.T. —	3000 1.4	0 >3	0 >3

N.T. = 未処理

【手続補正書】特許法第184条の8

【提出日】1996年7月5日

【補正内容】

請求の範囲

1. ヒト成長ホルモン (hGH) 及び安定化量のサッカロースのみの固体の完全な混合物を含むことを特徴とする医薬組成物。
2. 前記固体の完全な混合物が凍結乾燥物であることを特徴とする請求項1に記載の医薬組成物。
3. 前記hGHが組換え体であることを特徴とする請求項1に記載の医薬組成物。
4. 5又は10mg/バイアルのhGHを含むことを特徴とする請求項1～3のいずれかに記載の医薬組成物。
5. 前記構成物の水溶液の調製と、容器内の分散と、該容器内の凍結乾燥と、を含むことを特徴とする請求項1～4のいずれかに記載の医薬組成物を調製するための方法。
6. 前記水溶液が酢酸緩衝液、コハク酸緩衝液及びリン酸緩衝液から選択される緩衝溶液であることを特徴とする請求項5に記載の方法。
7. 前記緩衝溶液がリン酸緩衝液であることを特徴とする請求項6に記載の方法。
8. 前記溶液のpHが6.0～8.0の範囲内であることを特徴とする請求項6又は7に記載の方法。
9. 前記溶液のpHが7.5であることを特徴とする請求項6～8のいずれかに記載の医薬組成物。
10. 使用前の保存並びに注入可能物のための溶媒もしくは溶液内への前記混合物の再構成に適した容器内において滅菌条件下に密閉された請求項1～4のいずれかに記載の固体混合物を含む前記医薬組成物の提供形態。
11. 注入可能物のための溶媒又は溶液において再構成された請求項10に記載の前記固体混合物を含む溶液。

12. 5又は10mg／バイアルのhGHと、68.4mg／バイアルのサッカロースと、pH7.5におけるリン酸緩衝液と、を含むことを特徴とする請求項11に記載の再構成された溶液。

13. 前記溶媒が静菌溶媒であることを特徴とする請求項12に記載の溶液。

14. 前記静菌溶媒がm-クレゾール 0.3%であることを特徴とする請求項13に記載の溶液。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 A61K38/27		International Application No. PCT/IT 94/00086
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO,A,93 12812 (NOVO NORDISK A/S) 8 July 1993 see page 8, line 22 - page 9, line 15 see page 14, line 24 - page 16, line 10 ---	1-16
Y	US,A,5 122 367 (EYAL RON ET AL.) 16 June 1992 cited in the application see column 2, line 49 - column 3, line 26 ---	1-16
Y	WO,A,94 03198 (GENENTECH, INC.) 17 February 1994 see page 4, line 26 - page 7, line 30 ---	1-16
Y	EP,A,0 303 746 (INTERNATIONAL MINERALS AND CHEMICAL CORPORATION) 22 February 1989 see page 3, line 9 - page 4, line 12 see page 4, line 35 - line 56 ---	1-16
-/-		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another invention or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 22 February 1995		Date of mailing of the international search report 27.02.95
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer Rempp, G

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No

PCT/IT 94/00086

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO,A,93 19773 (PITMAN-MOORE, INC.) 14 October 1993 -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/IT 94/00086

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO-A-9312812	08-07-93	AU-B- 3344693	28-07-93
		CA-A- 2125855	08-07-93
		EP-A- 0618807	12-10-94
		FI-A- 942906	17-06-94
		NO-A- 942300	19-08-94
US-A-5122367	16-06-92	NONE	
WO-A-9403198	17-02-94	AU-B- 4792793	03-03-94
EP-A-0303746	22-02-89	HU-A- 44706	28-04-88
WO-A-9319773	14-10-93	AU-B- 4278393	08-11-93
		CA-A- 2133737	14-10-93
		CN-A- 1078910	01-12-93